



(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **1 566 532** ⁽¹³⁾ **C**
(51) МПК⁶ **A 61 K 39/02**

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

(21), (22) Заявка: 4396851/13, 24.03.1988

(46) Дата публикации: 20.12.1995

(56) Ссылки: Ветеринарные препараты. М.: Колос, 1981, с.163-168. Авторское свидетельство СССР N 980431, кл. C 12N 3/00, 1981.

(71) Заявитель:

Всесоюзный государственный
научно-контрольный институт ветеринарных
препаратов

(72) Изобретатель: Романов Г.И.,

Чернецкий Ю.П., Великанова Т.А., Саленко
Л.С., Кремлев Н.П., Степанова В.В., Шморгун
Б.И.

(73) Патентообладатель:

Всесоюзный государственный
научно-контрольный институт ветпрепаратов

(54) СПОСОБ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ ЖИВОТНЫХ

(57)

Изобретение относится к биотехнологии и касается получения вакцины против сибирской язвы. Цель изобретения упрощение способа, повышение иммуногенной активности и выхода вакцины. Способ включает одностадийное культивирование вакцинного штамма в жидкой питательной среде, содержащей 77

82% панкреатического гидролизата казеина и 18 - 23% дрожжевого экстракта. Культивирование проводят в течение 41 48 ч при 30 33°C, pH среды поддерживается на уровне 8 9. Полученную бактериальную массу 1500 600 миллион микробных клеток в 1 см³ с содержанием живых спор 90 95% лиофилизируют. 2 табл.

RU 1 566 532 C

C
2
3
5
6
1
RU



(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **1 566 532** ⁽¹³⁾ **C**
(51) Int. Cl.⁶ **A 61 K 39/02**

RUSSIAN AGENCY
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: 4396851/13, 24.03.1988

(46) Date of publication: 20.12.1995

(71) Applicant:
Vsesojuznyj gosudarstvennyj
nauchno-kontrol'nyj institut veterinarnyx
preparatov

(72) Inventor: Romanov G.I.,
Chernetskij Ju.P., Velikanova T.A., Salenko
L.S., Kremlev N.P., Stepanova V.V., Shmorgun
B.I.

(73) Proprietor:
Vsesojuznyj gosudarstvennyj
nauchno-kontrol'nyj institut vetpreparatov

(54) **METHOD FOR PRODUCING ANIMAL ANTHRAX VACCINE**

(57) Abstract:

FIELD: veterinary medicine. SUBSTANCE:
method involves one stage culturing vaccine
strain in liquid nutrient medium having
77-82% pancreatic hydrolysate of casein and
18-23% of yeast extract. Culturing takes
place during 41-48 h at 30-33 C, medium pH

is kept at the level of 8-9. The obtained
bacterial mass with 1 500-600 millions of
microbial cells in 1 cm³ containing 90-95
of living spores is lyophilized. EFFECT:
simplified method; enhanced immunogenic
activity. 2 tbl

RU 1 566 532 C

RU 1 566 532 C

Изобретение относится к биотехнологии и касается получения вакцин против сибирской язвы.

Цель изобретения упрощение способа, повышение иммуногенной активности и выхода вакцины.

Пример 1. Культура штамма *Bacillus anthracis* СТИ-1 в количестве 25 см³ вносят через посевную трубку в стеклянный ферментер с 1 л питательной среды.

Состав питательной среды: панкреатический гидролизат казеина 800 мл (80%), дрожжевой экстракт (1:3) 200 мл (20%), pH среды доводят до 7,3 путем добавления K₂HPO₄ (5 г) и KH₂PO₄ (1 г), содержание общего азота 100-200 мг аминного азота 45-50 мг

Культивирование проводят при pH 8,0 глубинным методом в течение 41-48 ч. Подачу стерильного воздуха через барботер в объеме 2,5-3,0 дм³/мин осуществляют при температуре культуральной жидкости 30-33 °C в течение 36 ч, остальное время (5-12 ч) культивирование проводят без аэрации при комнатной температуре 20±2°C для получения бактериальной массы с содержанием спор не менее 90%

Контроль за уровнем pH осуществляют через 17 ч. При снижении pH до значения ниже 8,0 к питательной среде добавляют 10%-ный раствор NaOH или КОН для доведения pH до 8,0

Для сравнения одновременно проводят культивирование штамма на известных жидких питательных средах: в бульоне Хоттингера и в среде, приготовленной на основе мясокислотного гидролизата. Результаты представлены в табл. 1.

Из приведенных данных видно, что наиболее продуктивной является казеиново-дрожжевая среда, причем композиция живых спор, получаемая на этой среде при данном режиме, составила 500-600 млн/см³.

Полученную в результате культивирования на казеиново-дрожжевой среде бактериальную массу штамма СТИ-1 смешивают с 30% глицерина и проверяют на стерильность, безвредность, активность. ИмД₅₀ изготовленного таким образом биопрепарата составит 0,87 млн·спор.

Пример 2. Изучено влияние pH на спорообразование в процессе культивирования вакцинного штамма *Bacillus anthracis*. Для этого культуру штамма СТИ 1 по 25 см³ вносят в три ферментера, содержащие по 1 л казеиново-дрожжевой среды, включающей 77% панкреатического гидролизата казеина и 23% дрожжевого экстракта. Культивирование проводят по примеру 1. Через 17 ч измеряют pH культуральной жидкости в ферментерах. В ферментер N 1, где pH культуральной жидкости равно 6,4-6,7 добавляют 10%-ный раствор NaOH, доводя pH до 8,6-9,0, а pH среды в ферментере N 2 (6,4-6,8) для контроля оставляют без изменений. Культуральная жидкость в ферментере N 3 через 17 ч культивирования штамма имеет pH 8,2-8,3, т.е. выше 8,0 и в нее раствор едкого натрия не добавляют. Результаты приведены в табл. 2.

Таким образом, способ позволяет получить культуру штамма СТИ-1 со степенью спорообразования более 90% при концентрации спор 500-600 млн/см³ и повысить иммуногенную активность и выход биопрепарата.

Формула изобретения:

СПОСОБ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ ЖИВОТНЫХ, включающий подготовку посевного материала штамма *Bacillus anthracis* СТИ-1, выращивание культуры, индукцию спорообразования в жидкой питательной среде, содержащей дрожжевой экстракт, с регуляцией pH и аэрацией, смешивание бактериальной массы со стабилизатором, отличающийся тем, что, с целью упрощения способа, повышения иммуногенной активности и выхода вакцины, стадию выращивания и спорообразования проводят одновременно в жидкой питательной среде, дополнительно содержащей панкреатический гидролизат казеина, при следующем содержании компонентов, об.

Панкреатический гидролизат казеина 77-88

Дрожжевой экстракт 18-23

при этом содержание в среде общего и аминного азота составляет 100-200 и 45-50 мг соответственно, а pH поддерживают на уровне 8-9.

50

55

60

Таблица 1

Результаты культивирования штамма СТИ-1 на разных питательных средах

Среда	Режим культивирования	Степень спорообразования, %			
		17 ч	24 ч	41 ч	48 ч
Казеиново-дрожжевая	T=30-33 °C, расход воздуха 2,5-3,0 дм ³ /мин, время барботажа 36 ч; без аэрации, 5-12 ч при T=20 °C	0	0	85-90	90-95
Бульон Хоттингера	Тот же	0	0	0	0-5
На основе мясокислотного гидролизата	Тот же	0	0	0	0-5

Таблица 2

Влияние pH среды на степень спорообразования в культуре штамма СТИ-1

Среда	Режим культивирования	pH среды		Степень спорообразования в культурах, %				
		через 17 ч	после добавления раствора NaOH	17 ч	24 ч	41 ч	48 ч	60 ч
Казеиново-дрожжевая (ферментер № 1)	При температуре 30-33°C с подачей воздуха в течение 36 ч, далее без подачи воздуха при температуре 20 ± 2°C	6,4-6,7	8,6-9,0	0	0	85-90	90-95	95-98
Та же (ферментер № 2)	Тот же	6,4-6,8	Не добавля- ют	0	0	0	0	0-10
Та же (ферментер № 3)	Тот же	8,2-8,3	То же	0	0	85-90	90-98	95-98